



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0317

Úloha miRNA pri vzniku a priebehu kardiovaskulárnych ochorení - nové prístupy ochrany srdca v situáciách zvýšenej produkcie reaktívnych foriem kyslíka

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Branislav Kura, PhD.**

Príjemca **Centrum experimentálnej medicíny SAV, v. v. i. - Ústav pre výskum srdca**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Centrum experimentálnej medicíny SAV, v. v. i., Ústav pre výskum srdca
Dúbravská cesta 9, 841 04 Bratislava

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. Doc., PhDr. Michal Botek, PhD.
Univerzita Palackého v Olomouci
Česká republika

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

0

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

KURA, Branislav - PAVELKOVÁ, Patrícia - KALOČAYOVÁ, Barbora - SLEZÁK, Ján. Radiation-Induced Heart Disease: Potential Role for Molecular Hydrogen. In Advances in Biochemistry in Health and Disease : Molecular Hydrogen in Health and Disease. Vol. 27. - Cham : Springer, 2024, p. 125-143. ISBN 978-3-031-47374-6.
VLKOVIČOVÁ, Jana - KURA, Branislav - PAVELKOVÁ, Patrícia - KALOČAYOVÁ, Barbora. Molecular Hydrogen: A New Protective Tool Against Radiation-Induced Toxicity. In Advances in Biochemistry in Health and Disease : Molecular Hydrogen in Health and Disease. Vol. 27. - Cham : Springer, 2024, p. 155-168. ISBN 978-3-031-47374-6.
SZEIFFOVÁ BAČOVÁ, Barbara - ANDELOVÁ, Katarína - SÝKORA, Matúš - KURA, Branislav - KALOČAYOVÁ, Barbora - SLEZÁK, Ján - TRIBULOVÁ, Narcisa. Short-Lasting Supplementation with Molecular Hydrogen and Vitamin E Upregulates Myocardial Connexin-43 in Irradiated and Non-irradiated Rat Heart. In Advances in Biochemistry in Health and Disease : Molecular Hydrogen in Health and Disease. Vol. 27. - Cham : Springer, 2024, p. 145-154. ISBN 978-3-031-47374-6.
BOŤANSKÁ, Barbora - PECNÍKOVÁ, Viktória - KURA, Branislav - SLEZÁK, Ján - BARANČÍK, Miroslav. Role of Matrix Metalloproteinases in Effects of Molecular Hydrogen. In Advances in Biochemistry in Health and Disease : Molecular Hydrogen in Health and Disease. Vol. 27. - Cham : Springer, 2024, p. 169-178. ISBN 978-3-031-47374-6.
KURA, Branislav - SZEIFFOVÁ BAČOVÁ, Barbara - BARANČÍK, Miroslav - SÝKORA,

Matúš - OKRUHLICOVÁ, Ľudmila - TRIBULOVÁ, Narcisa - BOLLI, Roberto - KALOČAYOVÁ, Barbora - LE BARON, Tyler W. - ANDELOVÁ, Katarína - SLEZÁK, Ján. Perioperative Mitigation of Oxidative Stress with Molecular Hydrogen During Simulated Heart Transplantation in Pigs. In *Advances in Biochemistry in Health and Disease : Molecular Hydrogen in Health and Disease*. Vol. 27. - Cham : Springer, 2024, p. 179-193. ISBN 978-3-031-47374-6.

KURA, Branislav - PAVELKOVÁ, Patrícia - KALOČAYOVÁ, Barbora - POBIJAKOVÁ, Margita - SLEZÁK, Ján. MicroRNAs as Regulators of Radiation-Induced Oxidative Stress. In *Current Issues in Molecular Biology*, 2024, vol. 46, p. 7097-7113. (2023: 2.8 - IF, Q3 - JCR, 0.675 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 1467-3037

KURA, Branislav - SLEZÁK, Ján. The Protective Role of Molecular Hydrogen in Ischemia/Reperfusion Injury. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, vol. 25, iss. 14, p.7884. <https://doi.org/10.3390/ijms25147884>

SINGH, R. B - SUMBALOVÁ, Zuzana - FATIMA, Ghizal - MOJTO, Viliam - FEDÁČKO, Ján - TARNAVA, Alex - POKOTYLO, Oleg - GVOZDJÁKOVÁ, Anna - FERENCZYOVÁ, Kristína - VLKOVIČOVÁ, Jana - KURA, Branislav - KALOČAYOVÁ, Barbora - ŽEŇUCH, Pavol - SLEZÁK, Ján**. Effects of Molecular Hydrogen in the Pathophysiology and Management of Cardiovascular and Metabolic Diseases. In *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 2024, vol. 25, no. 1, art. no. 33. (2023: 1.9 - IF, Q3 - JCR, 0.518 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 1530-6550

SLEZÁK, Ján - KURA, Branislav - LE BARON, Tyler W. - SINGAL, Pawan K. - BUDAY, Jozef - BARANČÍK, Miroslav. Oxidative Stress and Pathways of Molecular Hydrogen Effects in Medicine. In *Current Pharmaceutical Design*, 2021, vol. 27, no. 5, p. 610-625.

KURA, Branislav - KALOČAYOVÁ, Barbora - SZEIFFOVÁ BAČOVÁ, Barbara - FÜLÖP, Marko - ŠAGÁTOVÁ, A. - SÝKORA, Matúš - ANDELOVÁ, Katarína - ABUAWAD, Ziad - SLEZÁK, Ján. The effect of selected drugs on the mitigation of myocardial injury caused by gamma radiation. In *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2021, vol. 99, iss. 1, p. 80-88.

GVOZDJÁKOVÁ, Anna - KUCHARSKÁ, Jarmila - KURA, Branislav - VANČOVÁ, Olga - RAUSOVÁ, Zuzana - SUMBALOVÁ, Zuzana - ULICHNÁ, Oľga - SLEZÁK, Ján**. A new insight into the molecular hydrogen effect on coenzyme Q and mitochondrial function of rats. In *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2020, vol. 98, iss. 1, p. 29-34.

KURA, Branislav - SZEIFFOVÁ BAČOVÁ, Barbara - KALOČAYOVÁ, Barbora - SÝKORA, Matúš - SLEZÁK, Ján**. Oxidative Stress-Responsive MicroRNAs in Heart Injury. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 1, art. no. E358.

KURA, Branislav - KALOČAYOVÁ, Barbora - DEVAUX, Yvan - BARTEKOVÁ, Monika**. Potential Clinical Implications of miR- 1 and miR- 21 in Heart Disease and Cardioprotection. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 3, pii: E700.

KURA, Branislav - SZANTOVÁ, M. - LE BARON, Tyler W. - MOJTO, Viliam - BARANČÍK, Miroslav - SZEIFFOVÁ BAČOVÁ, Barbara - KALOČAYOVÁ, Barbora - SÝKORA, Matúš - OKRUHLICOVÁ, Ľudmila - TRIBULOVÁ, Narcisa - GVOZDJÁKOVÁ, Anna - SUMBALOVÁ, Zuzana - KUCHARSKÁ, Jarmila - FAKTOROVÁ, Xénia - JAKABOVIČOVÁ, Martina - ĎURKOVIČOVÁ, Zuzana - MAČUTEK, Ján - KOŠČOVÁ, Michaela - SLEZÁK, Ján**. Biological Effects of Hydrogen Water on Subjects with NAFLD: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. In *Antioxidants*, 2022, vol. 11, iss. 10, art. no. 1935.

SUMBALOVÁ, Zuzana - KUCHARSKÁ, Jarmila - RAUSOVÁ, Zuzana - GVOZDJÁKOVÁ, Anna - SZANTOVÁ, Mária - KURA, Branislav - MOJTO, Viliam - SLEZÁK, Ján. The Effect of Adjuvant Therapy with Molecular Hydrogen on Endogenous Coenzyme Q10 Levels and Platelet Mitochondrial Bioenergetics in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, no. 15, art. no. 12477. (2022: 5.6 - IF, Q1 - JCR, 1.154 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2023 - Current Contents). ISSN 1422-0067. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms241512477>

RAVINGEROVÁ, Táňa - ADAMEOVÁ, Adriana - LONEK, Ľubomír - FARKAŠOVÁ, Veronika - FERKO, Miroslav - ANDELOVÁ, Natália - KURA, Branislav - SLEZÁK, Ján - GALATOU, Eleftheria - LAZOU, Antigone - ZOHDI, Vladislava - DHALLA, Naranjan S. Is Intrinsic Cardioprotection a Laboratory Phenomenon or a Clinically Relevant Tool to Salvage the Failing Heart? In *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, no. 22, art. no. 16497. (2022: 5.6 - IF, Q1 - JCR, 1.154 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2023 - Current Contents). ISSN 1422-0067. Dostupné na: <https://doi.org/10.3390/ijms242216497>

KALOČAYOVÁ, Barbora - KURA, Branislav - VLKOVIČOVÁ, Jana - ŠNÚRIKOVÁ, Denisa -

VRBJAR, Norbert - FRIMMEL, Karel - HUDEC, Vladan - ONDRUŠEK, Matej - GAŠPAROVIČ, Ivo - ŠRAMATÝ, Rastislav - LUPTÁK, Jaroslav - HULMAN, Michal - LE BARON, Tyler W. - SLEZÁK, Ján. Molecular hydrogen: prospective treatment strategy of kidney damage after cardiac surgery. In Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2023, vol. 101, iss. 10, p. 502-508. (2022: 2.1 - IF, Q3 - JCR, 0.497 - SJR, Q3 - SJR). ISSN 0008-4212. Dostupné na: <https://doi.org/10.1139/cjpp-2023-0098>

BARANCIK Miroslav, KURA Branislav, LEBARON Tyler W., BOLLI Roberto, BUDAY Jozef, SLEZAK Jan. (2020). "Molecular and Cellular Mechanisms Associated with Effects of Molecular Hydrogen in Cardiovascular and Central Nervous Systems." Antioxidants, 2020, Volume 9(12): 1281. DOI: 10.3390/antiox9121281. Available at: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/12/1281>. Registrované v: SCOPUS

LEBARON, TW, SINGH, RB, Fatima, G, KARTIKEY, K, SHARMA, JP, OSTOJIC, SM, Gvozdjakova, A, KURA, B, NODA, M, MOJTO, V, NIAZ, MA, SLEZAK, J. The Effects of 24-Week, High-Concentration Hydrogen-Rich Water on Body Composition, Blood Lipid Profiles and Inflammation Biomarkers in Men and Women with Metabolic Syndrome: A Randomized Controlled Trial. Diabetes Metab Syndr Obes. 2020;13:889-896. Available at: <https://doi.org/10.2147/DMSO.S240122>.

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky projektu obohacujú poznanie (najmä tie vo forme publikácií), a sú dobre citované. Výsledky je možné využiť najmä v zdravotníctve pri prevencii a liečbe civilizačných ochorení.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Z výsledkov projektu vyplýva, že najmä na základe skríningu miRNA zo srdca poškodeného žiarením sú do patológie srdca a ciev zapojené najmä mechanizmy spojené s oxidačným stresom (miRNA-30e, -140 a -142 – Nrf2/Keap1, SOD, CAT), s procesmi fibrotizácie tkaniva a poškodenia cievneho endotelu (miRNA-21, -30e, -140, 142 – TGF- β), so zápalom (miRNA-140, -142 – TNF- α) a bunkovej smrti (miRNA-21, -30e, -208a – PDCD4, p53, kaspáza 3).

Z výsledkov projektu vyplýva, že ako použitie vodíka, tak aj administrácia vitamínom E pozitívne pôsobí na mladšie aj na staršie jedince, ktorých srdce bolo poškodené žiarením. V porovnaní s vodíkom podávanie vitamínu E po ožiarení hrudníka malo pozitívny účinok najmä u mladších zvierat, kedy významnejšie zlepšovalo aktivity LDH, SOD a množstvo MDA. V prípade pro-zápalových cytokínov TNF- α , NF- κ B a IL-6, bola u mladších zvierat účinnejšia terapia vodíkom. Naopak, terapia vodíkom bola výrazne účinnejšia u zvierat v staršom veku, kde bol zaznamenaný výraznejší pokles aktivity LDH a SOD, a tiež pokles množstva MDA, IL-6, TNF- α a NF- κ B v porovnaní s vitamínom E.

Podobné výsledky boli tiež zaznamenané aj v prípade funkčných parametrov z experimentov metódy izolovaného srdca podľa Langendorffa. Podávanie vodíka aj vitamínu E bolo účinné pri mitigácii radiačného poškodenia srdca, kedy sme zaznamenali vyšší tlak vyvolaný ľavou komorou (LVDP), vyšší index práce srdca (RPP), zlepšenie parametrov maximálnej rýchlosti vzostupu a poklesu tlaku ľavej komory (+dp/dtmax a -dp/dtmax) a nižšiu veľkosť infarktových ložísk po ischémií.

Zmeny v expresii miRNA boli verifikované pomocou PCR. Podobne ako v našich predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že žiarenie v srdci významne zvyšuje expresiu miRNA-21. Okrem toho boli významne zvýšené aj miRNA-30e a miRNA-142 u mladších a starších zvierat. Pri expresii miRNA-208a a miRNA-140 sme zaznamenali významný pokles po ožiarení. Zaujímavé je, že na základe našich zistení dochádza ku rozdielnym zmenám expresie miRNA-140 v srdci starších (zvýšenie) a mladších jedincov (zníženie).

Terapeutická intervencia významne normalizovala expresiu miRNA-21, -30e, -142 a -208a. Vo všeobecnosti môžeme zhrnúť, že podávanie vodíka aj vitamínu E malo protektívne účinky na radiačné poškodenie srdca u mladších aj starších potkanov. Obe látky preukázali antioxidantné, protizápalové a anti-apoptické efekty, pričom významnejšie rádioprotektívne účinky (najmä u starších jedincov) boli pozorované po podávaní vodíka. Ukazuje sa, že u mladších jedincov vodík pôsobí najmä ako účinný antioxidant s potenciálnym zapojením dráhy NRF2/Keap, čo súvisí tiež so zvýšením aktivity endogénnych antioxidantov, ako napr. SOD. U starších ožiarených jedincov sa po administrácii vodíka pozorovalo zapojenie najmä

jeho protizápalových a anti-apoptických mechanizmov, preukázalo sa znižovanie zápalových proteínov IL-6 a TNF- α a tiež redukcia apoptických markerov PDCD4 a p53.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The results of the project indicate that based on the miRNA screening from the radiation-damaged heart, mechanisms associated with oxidative stress (miRNA-30e, -140, and -142 – Nrf2/Keap1, SOD, CAT), tissue fibrosis processes, and damage to the vascular endothelium (miRNA-21, -30e, -140, 142 – TGF- β), inflammation (miRNA-140, -142 – TNF- α), and cell death (miRNA-21, -30e, -208a – PDCD4, p53, caspase 3) are primarily involved in heart and vascular pathology. The results suggest that both the use of hydrogen and the administration of vitamin E have a positive effect on both younger and older individuals whose hearts were damaged by radiation. Compared to hydrogen, the administration of vitamin E after chest irradiation had a particularly positive effect in younger animals, significantly improving LDH, SOD activities, and the amount of MDA. In the case of pro-inflammatory cytokines TNF- α , NF- κ B, and IL-6, hydrogen therapy was more effective in younger animals. Conversely, hydrogen therapy was significantly more effective in older animals, where a more pronounced decrease in LDH and SOD activity, as well as a reduction in MDA, IL-6, TNF- α , and NF- κ B levels, was observed compared to vitamin E. Similar results were also recorded in terms of functional parameters from Langendorff isolated heart experiments. Both hydrogen and vitamin E administration were effective in mitigating radiation damage to the heart, as indicated by higher left ventricular developed pressure (LVDP), higher rate pressure product (RPP), improvement in maximum rates of pressure rise and fall in the left ventricle (+dp/dtmax and -dp/dtmax), and smaller infarct sizes after ischemia. Changes in miRNA expression were verified using PCR. As in our previous experiments, we found that radiation significantly increases the expression of miRNA-21 in the heart. Additionally, miRNA-30e and miRNA-142 were significantly elevated in both younger and older animals. A significant decrease in the expression of miRNA-208a and miRNA-140 was recorded after irradiation. Interestingly, based on our findings, there are different changes in miRNA-140 expression in the hearts of older (increase) and younger individuals (decrease). Therapeutic intervention significantly normalized the expression of miRNA-21, -30e, -142, and -208a. In general, we can summarize that the administration of both hydrogen and vitamin E had protective effects against radiation damage to the heart in both younger and older rats. Both substances demonstrated antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic effects, with more significant radioprotective effects (especially in older individuals) observed after hydrogen administration. It appears that in younger individuals, hydrogen acts primarily as an effective antioxidant with potential involvement of the NRF2/Keap pathway, which is also related to increased activity of endogenous antioxidants such as SOD. In older irradiated individuals, after hydrogen administration, involvement of its anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms was observed, showing a reduction in inflammatory proteins IL-6 and TNF- α , as well as a reduction in apoptotic markers PDCD4 and p53.